

# 氨糖软骨素片增加骨密度动物实验研究

叶礼红, 黄远英

(汤臣倍健股份有限公司, 广东 广州 510663)

**摘要:**目的 探讨以 D-氨基葡萄糖硫酸钾盐、硫酸软骨素、碳酸钙、骨碎补为主要成分的氨糖软骨素片增加骨密度作用。方法 以 340 mg/kg.bw、680 mg/kg.bw、1 360 mg/kg.bw (相当于人体推荐剂量 5、10、20 倍) 剂量的氨糖软骨素片给大鼠喂饲 90 d, 测定大鼠体重、右股骨重、左股骨密度及右股骨钙含量等指标。结果 实验组大鼠右股骨重与对照组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 实验组各剂量组和高剂量碳酸钙组的体重、左股骨密度、右股骨钙含量显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 且高剂量组左股骨骨密度、右股骨骨钙含量与高剂量碳酸钙组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 该氨糖软骨素片具有增加大鼠骨密度的作用。

**关键词:** D-氨基葡萄糖; 硫酸软骨素; 碳酸钙; 骨碎补; 骨密度; 动物

中图分类号: R-332 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2013)22-4239-03

## An animal study on the use of ammonia sugar chondroitin for the improvement in bone density

YE Li-hong, HUANG Yuan-ying.

BY-HEALTH Co., Ltd.

**Abstract:** **OBJECTIVE** The study was conducted to explore the bone density-improving effect of ammonia sugar chondroitin tablets with D-glucosamine, chondroitin sulfate, calcium carbonate, and rhizoma drynariae as the main ingredients. **METHODS** Rats were fed for 90 days with 340 mg/kg.bw, 680 mg/kg.bw, and 1360 mg/kg.bw of ammonia sugar chondroitin (equivalent to 5, 10, and 20 times of the recommended dose for human). Body weight, weight of the right femur, density of the left femur, and calcium content of the right femur of the rats were measured. **RESULTS** No significant difference in the weight of the right femur was observed between the rats in the experimental group and the control group ( $P > 0.05$ ). Body weight, density of the left femur, and calcium content of the right femur of all dose groups and the high calcium carbonate group of the experimental group were significantly higher than those of the control group ( $P < 0.01$ ), and no significant difference was observed in density of the left femur and calcium content of the right femur between the high dose group and the high calcium carbonate group ( $P > 0.05$ ). **CONCLUSION** The ammonia sugar chondroitin tablet can increase bone density in rats.

**Keywords:** D-glucosamine; Chondroitin sulfate; Calcium carbonate; Rhizoma drynariae; Bone density; Animals

骨质疏松症是一种由于多种原因引起的以骨量减少和骨组织显微结构退行性改变为特征、骨脆性增加、易发骨折的一种全身性代谢性骨病。长期钙摄入不足可能是骨质疏松的危险因素, 我国居民第三次营养调查表明, 全国平均每人每日摄入钙 405 mg, 仅达到中国营养学会推荐每日膳食中营养供给量的 49.2%<sup>[1]</sup>, 可见钙缺乏在我国人群中是个普遍而常见的有损健康的问题。由于骨质疏松性骨折发病率高, 预后差和耗费巨大的特点, 给患者及家庭带来很大的心理和生活压力, 给社会造成严重的经济负担, 因此, 有关骨质疏松症及其并发症的预防和

治疗是目前研究的热点。氨糖软骨素片属于保健食品, 由氨基葡萄糖硫酸钾盐、硫酸软骨素、碳酸钙、骨碎补等组成, 本实验以大鼠为对象, 观察由上述 4 种成分组成的氨糖软骨素片增加动物骨密度的效果, 为其治疗和预防骨质疏松的作用提供初步实验室依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 药物

氨糖软骨素片 (汤臣倍健股份有限公司, 批号 20100101), 每片 1.02 g, 含钙 108 mg; 低钙饲料配方 (克 %): 酪蛋白 10.0, 黄豆粉 15.0, 小麦粉 54.0, 花生油 4.0, 纤维素 2.0, AIN-76 混合盐 2.6,

作者简介: 叶礼红 (1969-), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 慢性病与营养素

AIN-76 混合维生素 1.0, 氯化胆碱 0.2, DL-蛋氨酸 0.2, 淀粉 11.0, 实测每公斤饲料含钙量为 789.5 mg, 加入  $\text{CaCO}_3$  使饲料钙含量达到实测 150 mg/100 g (普通饲料含钙量 1 200 mg/100 g)。

### 1.2 试验动物及饲养

SPF 级雄性 SD 大鼠 55 只 (大鼠合格证号: SCXK (川) 2008-24), 由成都达硕生物科技有限公司提供。动物饲养: 动物在屏障级 (IVC) 动物房内饲养 (许可证号: 四川省实验动物管理委员会 SYXK (川) 2008-011 号)。整个实验过程中, 动物自由摄食和饮用去离子水, 室温  $20^\circ\text{C}\sim 26^\circ\text{C}$ , 相对湿度 40%~70%。

### 1.3 仪器和试剂

原子吸收分光光度计 (SOLAAR M6 型, 美国热电)、DPX-L 双能 X 线骨密度仪 (美国 Lunar 公司)、电子天平 (BP110S 型, 德国赛多利斯); 钙空心阴极灯 (北京曙光明电子光源仪器有限公司)。

### 1.4 实验方法

大鼠在四川大学华西公共卫生学院分析测试中心清洁级动物房用基础饲料适应性喂饲 7 d 后, 根据体重, 随机分为下列 5 组: 对照组, 高剂量碳酸钙组, 氨糖软骨素片 3 个剂量实验组: 340 mg/kg.bw 组, 680 mg/kg.bw 组和 1 360 mg/kg.bw 组 (分别相当于人体摄入量 68 mg/kg.bw 的 5、10、20 倍), 每组动物 11 只。5 组动物均用低钙饲料喂饲。对照组以蒸馏水灌胃; 3 个实验组按剂量把氨糖软骨素片配制成液体灌胃 (灌胃液的配制: 分别取氨糖软骨素片 3.40 g、6.80 g、13.60 g, 加蒸馏水定容至 100 ml, 配制成 340 mg/kg.bw、680 mg/kg.bw、1 360

mg/kg.bw 组的灌胃液, 含碳酸钙分别为 90 mg/kg.bw、180 mg/kg.bw、360 mg/kg.bw); 高剂量碳酸钙组经口灌入 360 mg/kg.bw 的碳酸钙 (灌胃液的配制: 取碳酸钙 3.60 g 加蒸馏水定容至 100 ml)。所有动物灌胃量均为 10 ml/kg.bw, 每天 1 次, 连续灌胃 90 d, 每周称体重并按体重调整灌胃量。

### 1.5 指标检测

实验末股动脉放血处死动物, 取出左侧股骨, 于  $105^\circ\text{C}$  烘箱中, 烤至恒重, 称量骨重。采用 DPX-L 双能 X 线骨密度仪扫描整个左股骨测定骨密度 ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ), 以骨的平均骨密度代表该骨骨密度。称量右侧股骨的总重量后, 放入经盐酸处理干燥清洁的三角瓶中, 加入硝酸+高氯酸 (4:1) 混合酸 15 ml 消化后, 用去离子水定容, 用原子吸收分光光度法测定右股骨骨钙含量, 每次测定用国家技术监督局批准的 GBW07604 杨树叶作质控物质。

### 1.6 统计学分析

采用各实验组与对照组均数比较的方差分析对数据进行处理。方差不齐采用秩和检验。所用软件为 PEMS3.1 《中国医学百科全书统计学统计软件包》(第三版)。

## 2 结果

### 2.1 氨糖软骨素片对大鼠体重、骨重的影响

各组实验前体重差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 实验后, 各剂量实验组和高剂量碳酸钙组的体重显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。各剂量实验组和高剂量碳酸钙组的右股骨骨重与对照组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 氨糖软骨素片对大鼠体重、骨重的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	体重 (g)		右股骨骨重 (g)
		实验前	实验后	
对照组	11	82.91 ± 6.31	288.36 ± 13.64	0.5477 ± 0.0431
340 mg/kg 组	11	84.36 ± 5.28	303.45 ± 14.96 <sup>*</sup>	0.5834 ± 0.0540
680 mg/kg 组	11	84.91 ± 4.89	303.73 ± 18.77 <sup>*</sup>	0.5499 ± 0.0491
1360 mg/kg 组	11	85.27 ± 4.03	306.00 ± 19.17 <sup>*</sup>	0.5791 ± 0.0536
高剂量碳酸钙组	11	86.73 ± 4.29	310.73 ± 11.39 <sup>*</sup>	0.5757 ± 0.0583

注: \*与对照组比较  $P < 0.05$ 。

### 2.2 氨糖软骨素片对大鼠骨密度及骨钙含量的影响

各剂量实验组和高剂量碳酸钙组的左股骨骨密度显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且高剂量实验组左股骨骨密度与高剂量碳酸钙组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。各剂量实验组和高剂量碳酸钙组的右股骨钙含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且高剂量实验组右股骨钙含量与高剂量碳酸钙组之间差异无

统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

## 3 讨论

大鼠钙摄入量不足会影响机体和骨骼的生长发育, 生长期大鼠在摄食低钙饲料的基础上分别补充碳酸钙或含钙产品, 比较两者在增加骨密度和骨矿物质含量, 促进机体及骨骼生长发育功能上的作用, 据此可对含钙产品增加骨密度的功能进行评价<sup>[2]</sup>。

表 2 氨基葡萄糖片对大鼠骨密度及骨钙含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	左股骨骨密度 ( $g/cm^2$ )	右股骨骨钙含 量 (mg/g)
对照组	11	0.1659 ± 0.0108	192.18 ± 17.70
340 mg/kg 组	11	0.1859 ± 0.0096 <sup>a</sup>	218.91 ± 15.97 <sup>a</sup>
680 mg/kg 组	11	0.1945 ± 0.0141 <sup>a</sup>	254.09 ± 21.94 <sup>a</sup>
1360 mg/kg 组	11	0.1971 ± 0.0114 <sup>a</sup>	264.45 ± 40.34 <sup>a</sup>
高剂量碳酸钙组	11	0.1944 ± 0.0143 <sup>a</sup>	246.55 ± 22.58 <sup>a</sup>

注: <sup>a</sup>与对照组比较  $P < 0.05$ 。

研究表明, D-氨基葡萄糖硫酸盐、硫酸软骨素、骨碎补提取物都有很好的增加骨密度的功能及较高的安全性。D-氨基葡萄糖盐酸盐作为甲壳素类物质, 可抑制因免疫而造成的蛋白多糖降解、修复受损关节软骨的作用<sup>[3]</sup>。硫酸软骨素具有促进骨细胞增生、诱导新骨形成、延缓衰老等作用<sup>[4]</sup>, 加钙能增加卵巢切除大鼠的骨密度<sup>[5]</sup>; 碳酸钙是一种无机化合物, 是目前剂型最多、应用最多的补钙剂, 吸收率可达 39%; 治疗骨质疏松症除补充钙剂治疗外, 也应该重视血液流变性和微循环的改善, 骨碎补在升高血钙水平同时提高骨密度, 并可明显改善动物的血液流变性和微循环状态, 具有活血化瘀的作用, 这有利于机体对钙物质的吸收, 能有效解除骨骼局部的瘀滞, 改善患者血液流变性及骨组织的血流状态, 促进骨骼的代谢, 减轻临床患者疼痛症状, 在改善患者血瘀症状的同时, 对老年患者骨质疏松的防治

起着治疗作用<sup>[6]</sup>。将 4 种原料进行复配, 具有协同增加骨密度作用, 本实验证实了这一点。大鼠左股骨骨密度与右股骨钙含量两项指标显示, 各剂量实验组显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 高剂量实验组与高剂量碳酸钙组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 且对动物生长无不良影响, 可以认为该产品具有增加动物骨密度的作用。而对人体能否增加骨密度、改善骨痛等症状有待进一步进行人体临床实验。(备注: 本文实验数据来源于四川大学华西公共卫生学院分析测试中心)。

## 参考文献

- [1] 葛可佑. 中国人群的膳食与营养状况[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2003.
- [3] 孙瑛. 实用关节炎诊断治疗学[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2002: 319-326.
- [4] 林洪, 姬胜利. 硫酸软骨素的药理作用及应用研究进展[J]. 食品与药品 A, 2006, 8 (12): 4-7.
- [5] 阳春华, 胡余明, 易传祝. 硫酸软骨素加钙对卵巢切除大鼠骨密度和骨钙含量的影响[J]. 实用预防医学, 2008, 15 (4): 1053-1054, 1117.
- [6] 刘剑刚, 谢雁鸣, 徐哲, 等. 骨碎补总黄酮的活血化瘀作用及对实验性微循环障碍和骨质疏松症的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2006, 12 (1): 46-49, 24.

收稿日期: 2012-07-19

(上接第 4238 页)

## 3 讨论

本实验通过对吸附于医用脱脂棉球上的唾液样品进行干燥浓缩 (约 2 ml/0.6 ml) 处理, 延长 ELISA 反应时间, 从而使血液 HIV 抗体弱阳性、按检测血液 HIV 抗体 ELISA 试剂盒说明书方法对其唾液样品无法检出 HIV 抗体的不确定人员 (其中 1 例 WB 带型为 gp160、p24; 另 1 例 WB 带型为 p24) 得以检出, 大大提高了实验的敏感性, 降低了实验方法的漏检率。

在用 ELISA 检测 143 例血清 HIV 抗体阴性人员中, 其相同人员的干唾棉球样品出现了 1 例 HIV 抗体假阳性结果, 且 A 值较高, 达 1.307。用其他厂家的 ELISA 检测 HIV 抗体试剂, 如“厦门英科新创”、“上海荣盛”检测, 其检测结果亦为阳性, 当 2 周后对这一人员重新采集唾液复检时, 其干唾棉球样品 HIV 抗体转为阴性。此现象在结果分析时应予以注意。

实验结果显示, 用改进 ELISA 检测干唾棉球样品 HIV 抗体的结果与按说明书 ELISA 法检测其血清样品 HIV 抗体的结果差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 二者符合率为 99.35%。故初步认为可以将用于检测血液样品 HIV 抗体的 ELISA 试剂, 用于唾液样品的 HIV 抗体检测, 从而可大大降低用唾液样品检测 HIV 抗体的实验成本, 克服因采血给受检人员带来的创伤、恐惧与疼痛等弊端, 提高经济效益与社会效益。但因受自然条件的限制, 无法获取更多的 HIV 抗体阳性样品进行试验, 所以其可行性尚须用大量的 HIV 抗体阳性样品进一步验证。

## 参考文献

- [1] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范 (2009 年修订版)[S/OL]. [http://www.chinaacdc.cn/jkzt/crb/azb/jszl\\_2219/201003/t20100322\\_24507.htm](http://www.chinaacdc.cn/jkzt/crb/azb/jszl_2219/201003/t20100322_24507.htm)
- [2] 孔繁生. 一种采集唾液标本的器具: 中国, ZL 200520028393.3 [P]. 2006-05-03.

收稿日期: 2012-10-07